＊＊ 2011 年 12 月改訂 (第 6 版)
＊ 2011 年 10 月改訂 (第 5 版)

この使用説明書をよく読んでから使用してください

研究用試薬

Swiftgene Norovirus ＧⅠ/ＧⅡ

スイフトジーン® ノロウイルス ＧⅠ/ＧⅡ 「カイノス」

＊＊【はじめに】

ノロウイルス (*Norovirus*) は嘔吐、下痢を主症状とする急性胃腸炎の病原体として知られる1本鎖RNAウイルスです。感染力が強く、あらゆる年齢層に感染し集団食中毒や集団感染を引き起こすため、公衆衛生上も重要なウイルスです。ノロウイルスは遺伝的に多様であり、主にGenogroup Ⅰ (ＧⅠ) 及びGenogroupⅡ (ＧⅡ) の2つの遺伝子群に分類され、さらに各遺伝子群はＧⅠで15種類以上、ＧⅡで18種類以上の遺伝子型 (genotype) に分類されます。

＊＊【全般的な注意】

1) 本製品は研究用試薬です。診療上の診断に用いることはできません。
2) 使用説明書に記載以外の使用方法については保証を致しません。
3) 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。詳細は機器メーカーにお問い合わせください。
4) 本製品は核酸 (RNA) を対象とし、大量のRNAを生成する試薬です。検体や増幅産物の取扱いを誤ると検査結果に大きく影響しますので、遺伝子操作に関する一般的な注意をよく理解して実施してください。

【形状・構造等 (キットの構成)】

1. NASBA 試薬: dNTPs、NTPs
2. プライマー溶液: ノロウイルス ＧⅠ/ＧⅡ用プライマー
3. NASBA 酵素試薬: AMV-RT、RNase H、T7 RNA polymerase
4. 精製水 (RNase free water)
5. 検出ストリップ
6. 展開液: 緩衝液
7. プレートシール
8. 反応用チューブ

【測定原理】

1. 原理

A. 増幅

NASBA法は、AMV-RT、RNase H、T7 RNA polymeraseの3種類の酵素及び2種類のプライマー (フォワード、リバース) を用いる等温核酸増幅反応です。フォワードプライマーは標的RNAと同一の配列であり、リバースプライマーは標的RNAと相補的な配列の5'側にT7 RNA polymeraseのプロモーター配列を付加しています。41℃の一定温度下で、標的RNAに対し相補的な配列を持つ1本鎖RNAが多数合成されます。このNASBA増幅産物は1本鎖RNAであるため、変性処理を加えることなくハイブリダイゼーションによる特異的検出ができます。

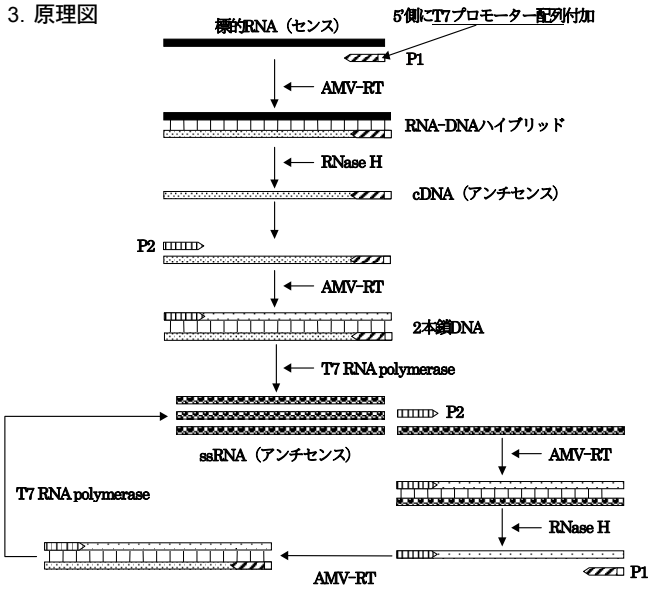
B. 検出

核酸クロマトグラフィーによる検出は、メンブレン上の捕捉プローブと、展開液中に処方された着色ラテックス標識オリゴによる、NASBA産物のサンドイッチハイブリダイゼーションに基づきます。本製品では、メンブレン上の別々の位置にＧⅠ及びＧⅡ遺伝子捕捉用オリゴを固相化しており、1回の検出でノロウイルスの遺伝子群を識別します。

2. 特徴

1) 1チューブで、ＧⅠ/ＧⅡのRNAを同時に増幅します。
2) 1ストリップで、ＧⅠ/ＧⅡを同時に検出し、識別することができます。
3) 増幅 (90分) と検出 (20分) の操作が約2時間で終了します。
4) 専用機器が不要で、目視によりライン出現の有無を判定します。

3. 原理図



＊＊【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取方法

1) あらかじめ検体からRNAを抽出してください。
2) 検体からのRNA抽出には、各施設で使用されているRNA抽出法に従ってください。RNA抽出試薬 (EXTRAGENⅡ等) を使用する際は、各キットの使用説明書に従ってください。

2. その他

1) RNase等による分解防止のため、検体からのRNA抽出操作を含め操作全般にわたって必ずマスク及びグローブを着用してください。
2) 増幅操作は、なるべくクリーンベンチで行ってください。

＊＊＊【用法・用量 (操作法)】

1. 試薬の調製方法

1) NASBA試薬:
NASBA試薬をスピンダウンした後、1チューブにプライマー溶液55 μLを加え、直ちにvortexを行い十分に溶解してください。溶解後は遠心しないでください (液を手で振り落とす程度)。
調製後は使用するまで氷上に置かず、常温に置いてください。
長期保存する場合、−20℃以下で保存してください。
2) NASBA酵素液:
NASBA酵素試薬をスピンダウンした後、精製水 (RNase free water) 30 μLを加え、10秒程度待ってからタッピングにより溶解・混和してください。vortex等による激しい溶解・混和は酵素が失活するため、行わないでください。
長期保存する場合、−20℃以下で保存してください。
3) 検出ストリップ、展開液:
そのまま使用してください。

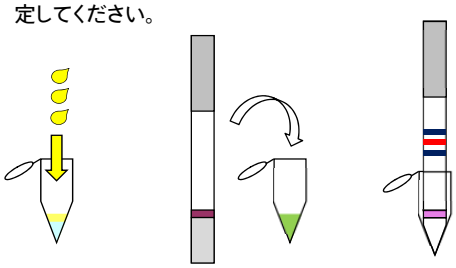
2. 必要な器具・器材・試料等

1) マイクロピペット (10 μL、200 μL)、フィルターチップ
2) ヒートブロック (41℃、65℃)
3) ボルテックスミキサー
4) 小型卓上遠心機

** 2011 年 12 月改訂 (第 6 版)
* 2011 年 10 月改訂 (第 5 版)

3. 操作法 (NASBA増幅法)
   1) 付属の反応用チューブにNASBA試薬を5 μLずつ分注する。分注後のチューブは常温に置く。
   2) 抽出RNAを2.5 μLずつ各チューブに分注し、10回ピペッティングして混合する。
      ※ チューブ内の液が散った場合は遠心してください。
   3) 各チューブを65℃のヒートブロックで5分間保温する。
   4) 41℃のヒートブロックで5分間保温する。
      ※ この保温中にNASBA酵素試薬を調製する (調製方法は「1. 試薬調製法」を参照)。
   5) 各チューブをヒートブロックに入れた状態のまま、NASBA酵素試薬を2.5 μLずつ反応液に直接添加し、4、5回ピペッティングして混合する。
   6) そのまま41℃のヒートブロックで90分間保温する。
      ※ NASBA酵素試薬添加後の最初の5分間は、NASBA初期反応に重要です。遠心など温度低下を招く操作は控えてください。
   7) 反応終了後、直ちに「4. 操作法 (核酸クロマトグラフィー)」に移行する。
      ※ NASBA増幅産物を保存する場合、増幅反応終了後のチューブを-20℃以下で保存してください。作業前に常温に戻してから使用してください。

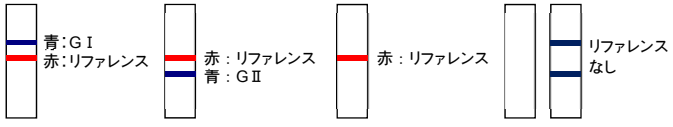
4. 操作法 (核酸クロマトグラフィー)
   1) 増幅反応終了後のチューブ (NASBA増幅産物) に展開液を3滴 (約90 μL) 加える。
   2) 検出ストリップを20～30℃に戻した後、トレーごとアルミ袋から出し、ストリップをトレーから注意深く取り出す。
   3) チューブにストリップの下端がチューブの底にあたるまで挿入し (チューブ底に強く押しつけないように注意)、2～3回出し入れする。
      ※ 検出操作は室温20～30℃で実施してください。
   4) チューブにストリップを挿入してから20分後に「判定方法」に従い判定してください。



1) 展開液を3滴加える　2) ストリップ挿入　3) 反応開始　4) 展開 20 分後に判定

**【測定結果の判定法】

1. 判定法
   1) ＧⅠ型陽性: 赤いラインの上に青色のラインが認められる
   2) ＧⅡ型陽性: 赤いラインの下に青色のラインが認められる
   3) 陰性: 赤いラインのみ認められる
   4) 無効: 赤いラインが認められない



1) ＧⅠ陽性　2) ＧⅡ陽性　3) 陰性　4) 無効

2. 判定上の注意
   1) 判定は1時間以内に行ってください。
   2) ストリップを挿入してから20分経過後、リファレンスラインが認められない場合、再検査してください。
   3) メンブラン上にラテックスの着色が全体的に残っていても、赤色のリファレンスラインが認められていれば反応は有効です。
   4) 検体により、検体中の目的成分以外の物質との反応や妨害反応を生じることがあります。測定値や測定結果に疑問がある場合は、再検査や希釈再検査、または他の検査方法により確認してください。

**【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上 (危険防止) の注意
   1) 検体は感染の危険性があるものとして取扱いには十分注意してください。また、検体に接触した器具等は検体と同様、感染の危険性のあるものとして取扱ってください。
   2) 試薬が誤って眼や口に入った場合は、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当を受けてください。

2. 使用上の注意
   1) 各試薬は保存温度を厳守してください。試薬保存にあたっては、コンタミネーション防止に注意してください。
   2) 増幅反応に使用する試液は2種類ありますので、調製時及び操作時に取り違えないように注意してください。
   3) NASBA増幅産物は-20℃で数週間保存可能ですが、長期間保存を行う際はディープフリーザー (-70℃以下) で保存してください。
   4) ラベルに記載されている使用期限内に使用してください。
   5) ロットの異なる試薬を混合して使用しないでください。

3. 廃棄上の注意
   1) 検査終了後の検出ストリップや増幅産物はキャリーオーバーコンタミネーションを起こす可能性がありますので、すぐに廃棄してください。検査結果を保存する場合は、検出ストリップをトレーに戻し、添付のプレートシールで密封し保存してください。
   2) 使用後の容器を廃棄する場合は、貴施設の廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物又は産業廃棄物等を区別して処理してください。
   3) 本製品を廃棄する場合は、水質汚染防止法等の関連法規に従って処理してください。

*【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法 : 2～10℃ 冷暗所保存
有効期間 : 12ヵ月 (使用期限は容器ラベル及び外箱に表示)

*【包装単位】

製品名		管理コード	包装
増幅試薬	NASBA試薬 プライマー溶液 NASBA酵素試薬 精製水	GP-3150	10回分× 2 110 μL× 1 10回分× 2 60 μL× 1
検出ストリップ	検出ストリップ 展開液 プレートシール 反応用チューブ	GP-3300	1本× 20 2.0 mL× 1 22枚 20本

【主要文献】

1) J. Compton : Nature, 350：91-92 (1991)
2) 宇治家武史、他 : ホルモンと臨床, 50：875-882 (2002)
3) 西川眞 : 新潟医学会雑誌, 117, 5：251-264 (2003)
4) 依田知子 : Medical Technology, 34, 11：1161-1166 (2006)
5) 宇治家武史 : 臨床化学, 36：19-24 (2007)
6) 宇治家武史 : 医学のあゆみ, 222：497 (2007)

【問い合わせ先】

株式会社カイノス 学術部
〒113-0033 東京都文京区本郷2-38-18
☎ 03 (3816) 4480　FAX 03 (3816) 6544

製造販売元
株式会社カイノス
〒113-0033 東京都文京区本郷2-38-18 ☎ 03 (3816) 4485